家禽副产物酶解肽对凡纳滨对虾生长性能、消化指标和非特异性免疫指标的影响

路晶晶[1] 郭 冉[1*] 夏 辉[1] 解 伟[1] 王美雪[1] 杨品贤[1] 李 娜[2]

(1.河北农业大学海洋学院，秦皇岛 066000；2.山东省高唐县第一中学，聊城 252000)

摘 要：本试验通过评估凡纳滨对虾的生长性能、消化指标和非特异性免疫指标，来研究家禽副产物酶解肽作为蛋白质源替代凡纳滨对虾饲料中部分鱼粉的可行性。以预混家禽副产物酶解肽（在家禽副产物酶解肽基础上添加包膜蛋氨酸，使其蛋氨酸含量与国产鱼粉相当）分别替代基础饲料中 0（对照）、2%、4%、6%、8%的鱼粉，共制成 5 种试验饲料，分别命名为 T_0、T_1、T_2、T_3、T_4。选取 900 尾平均体重（0.31±0.01） g 的凡纳滨对虾，随机分为 5 组，每组 3 个重复，每个重复 60 尾，进行为期 8 周的室内养殖试验。结果表明：家禽副产物酶解肽替代鱼粉水平为 2%～6%时，对虾的增重率、特定生长率、蛋白质效率、饲料系数与对照组无显著差异（$P>0.05$）。家禽副产物酶解肽替代鱼粉水平超过 2%时，全虾粗脂肪含量显著低于对照组（$P<0.05$），全虾粗灰分含量显著高于对照组（$P<0.05$）。家禽副产物酶解肽替代鱼粉水平为 2%时，肝胰腺中脂肪酶活性最高，并可显著降低血浆中葡萄糖和甘油三酯的含量（$P<0.05$），显著提高血浆中溶菌酶的活性（$P<0.05$）。家禽副产物酶解肽替代鱼粉水平超过 2%时，血浆中过氧化物酶的活性显著低于对照组($P<0.05$)。各组粗蛋白质表观消化率、粗脂肪表观消化率以及肝胰腺中溶菌酶、过氧化物酶活性与总抗氧化能力均无显著差异($P>0.05$)。由此得出，在本试验条件下，以生长性能为基础，综合考虑消化、非特异性免疫等指标，家禽副产物酶解肽替代凡纳滨对虾饲料中鱼粉的适宜水平为 2%。

关键词：家禽副产物酶解肽；凡纳滨对虾；生长性能；消化指标；非特异性免疫指标

中图分类号：S963 文献标识码：A 文章编号:

近年来，随着水产养殖业的迅速发展，凡纳滨对虾集约化养殖也在极力推进，随之作为优质蛋白质源的鱼粉需求量急剧上升，价格与日俱增[1]。无论从养殖成本还是对养殖业的发展要求考虑，探索新的饲料蛋白质源已经成为研究的热点[2-4]。动物对饲料中各种氨基酸的吸收并不仅仅受到单一限制性氨基酸的影响[5]。20 世纪 60 年代，Newey 等[6-8]通过研究表明甘氨酸二肽可以完整吸收，这为消化道可以吸收肽的理论提供了有力的证据。许培玉等[9]研究发现，在南美白对虾饲料中添加小肽制品后蛋白酶活性显著提高，提高蛋白质的利用率。国内外大量研究表明，可以通过酶降解技术来制备肽含量丰富的饲用羽毛粉肽，其中姚清华

收稿日期：2017-08-10
基金项目：河北农业大学人才振兴学科计划
作者简介：路晶晶（1992—），女，河北衡水人，硕士研究生，研究生方向为水产动物营养与饲料。E-mail：lujingjing928@sina.com
*通信作者：郭 冉，副教授，硕士生导师，E- mail: toguoran@163.com

等[10]用不同技术成功制取风味和口感均较好的饲用羽毛粉肽。家禽副产物羽毛粉、血粉是很好的蛋白质原料，但存在角蛋白、硬质蛋白等消化吸收率极低的蛋白，影响了蛋白质的吸收利用。以酶解大豆蛋白为载体，采用生物酶工程技术将家禽羽毛粉和血粉分解为多肽、小肽和单个氨基酸，制成功能性蛋白肽家禽副产物酶解肽（peptides hydrolyzed from poultry by-products，PHFP），可提高消化吸收率[11]。此外，作为替代鱼粉的饲料原料还要考虑一个重要的问题——氨基酸平衡问题。虽然家禽副产物酶解肽含有丰富的半胱氨酸、苏氨酸、异亮氨酸等必需氨基酸，但对于凡纳滨对虾的限制性氨基酸蛋氨酸的含量却远低于鱼粉。有研究表明，在水产动物中用羽毛粉搭配氨基酸可以节省部分鱼粉，来降低饲料成本[12]。因此，本试验采用家禽副产物酶解肽为原料搭配包膜蛋氨酸，以凡纳滨对虾为研究对象，研究其在饲料中部分替代鱼粉对凡纳滨对虾生长性能和非特异性免疫指标的影响。

1 材料与方法

1.1 饲料的制作

家禽副产物酶解肽由秦皇岛益尔生物科技有限公司生产，小肽含量在 12%以上，粗蛋白质含量在 60%以上，酸溶蛋白含量在 30%以上，其主要营养成分含量见表 1，分子质量分布见表 2。由于家禽副产物酶解肽中的限制性氨基酸蛋氨酸含量较国产鱼粉低，因此试验中在家禽副产物酶解肽基础上添加包膜蛋氨酸，使其蛋氨酸含量达到国产鱼粉蛋氨酸含量（1.7%），制成预混家禽副产物酶解肽。以预混家禽副产物酶解肽分别替代基础饲料中 0（对照）、2%、4%、6%、8%的鱼粉，共制成 5 种试验饲料，分别命名为 T_0、T_1、T_2、T_3、T_4。饲料原料经粉碎机粉碎后过 80 目筛网，按饲料配方（表 3）混合均匀，用双螺杆压条机挤压成直径为 1.2 mm 的颗粒饲料，经 60 ℃熟化 40 min，30 ℃恒温干燥 3 h 冷却后封入自封袋，于-20 ℃冰箱中保存。

表 1 家禽副产物酶解肽的主要营养成分含量（干物质基础）

Table 1 Main nutritional component contents of PHFP （DM basis） %

项目 Items	含量 Content
干物质 DM	97.96
粗蛋白质 CP	62.07
粗脂肪 EE	2.92
酸溶蛋白 ASP	≥30.00
消化率 Digestibility	89.02
必需氨基酸 EAA	

蛋氨酸 Met	0.66
色氨酸 Trp	0.53
缬氨酸 Val	3.69
异亮氨酸 Leu	2.65
亮氨酸 Ile	5.13
苏氨酸 Thr	2.58
苯丙氨酸 His	3.08
组氨酸 His	1.77
赖氨酸 Lys	3.97
精氨酸 Arg	3.99
非必需氨基酸 NEAA	
酪氨酸 Tyr	2.06
丝氨酸 Ser	3.85
谷氨酸 Glu	8.50
脯氨酸 Pro	3.94
甘氨酸 Gly	3.22
丙氨酸 Ala	3.28
半胱氨酸 Cys	1.45
天门冬氨酸 Asp	5.73

表 2 家禽副产物酶解肽的分子质量分布

Table 2 Molecular weight distribution of PHFP

分子质量 Molecular weight/u	<180	180～500	501～1 000	1 001～5 000
分布 Distribution/%	28.82	33.03	14.84	23.31

表 3 试验饲料组成及营养水平（干物质基础）

Table 3 Composition and nutrient levels of experimental diets （DM basis） %

项目 Items	饲料 Diets				
	T_0	T_1	T_2	T_3	T_4
原料 Ingredients					

面粉 Wheat flour	21.88	21.72	21.57	21.42	21.27
国产鱼粉 Domestic fish meal	18.00	16.00	14.00	12.00	10.00
预混家禽副产物酶解肽 Premixed PHEP		2.00	4.00	6.00	8.00
鱼油 Fish oil	1.00	1.16	1.31	1.46	1.61
其他 Others	59.12	59.12	59.12	59.12	59.12
合计 Total	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
营养水平 Nutrient levels					
干物质 DM	91.38	91.36	91.51	91.29	91.05
粗蛋白质 CP	45.63	45.82	45.71	45.20	45.76
粗脂肪 EE	6.01	6.02	6.03	6.01	6.02

其他包含 Contained the following of the others：虾粉 chrimp meal 11%，发酵花生粕 fermented peanut meal 13%，豆粕 soybean meal 26%，维生素 C 磷酸酯 vitamin C phosphate 0.5%，$Ca(H_2PO_4)_2$ 2%，玉米油 corn oil 1%，大豆磷脂油 soybean lecithin oil 1%，胆碱 choline 0.5%，羧甲基纤维素 CMC 1%，诱食剂 attractant 0.1%，三氧化二铬 Cr_2O_3 0.02%，复合维生素 multi-vitamins 2%，复合矿物盐 multi-minerals 1%。其中，复合维生素的组成为 Composition of multi-vitamins：氯化胆碱 choline chloride 5.55%，肌醇 inositol 2.22%，VC 1.11%，泛酸钙 calcium pantothenate 0.83%，VB_1 0.22%，VB_2 0.56%，VB_6 0.06%，VK 0.06%，叶酸 folic acid 0.02%，VB_{12} 0.012%，生物素 biotin 0.006%，醋酸α-生育酚 alpha tocopherol acetate 0.44%，纤维素 cellulose 88.912%。复合矿物盐的组成为 Composition of multi-minerals：$Ca(H_2PO_4)\cdot 2H_2O$ 12.29%，乳酸钙 calcium lactate 47.41%，$NaH_2PO_4\cdot 2H_2O$ 4.20%，NaCl 3.23%，K_2SO_4 16.38%，KCl 6.58%，$FeSO_4\cdot 7H_2O$ 1.07%，柠檬酸铁 ferric citrate 3.83%，$MgSO_4\cdot 7H_2O$ 4.42%，$ZnSO_4$ 0.47%，$MnSO_4\cdot H_2O$ 0.033%，$CuSO_4\cdot 5H_2O$ 0.022%，$CoCl_2\cdot 6H_2O$ 0.043%，KIO_4 0.022%。

1.2 饲养管理

虾苗采购于黄骅市鑫海生物技术有限公司，为进口凡纳滨对虾自交系 F1 代。虾苗暂养 2 周以适应养殖环境后，选取 900 尾健康活泼的虾苗[平均体重为（0.31±0.10） g]，随机分到 15 个水族箱（60 cm×40 cm×50 cm），每箱放养 60 尾，随机选 3 箱为 1 组，共 5 组，每组饲喂 1 种试验饲料，进行为期 8 周的养殖试验。养殖试验期间每日定时（08：00、14:00、20:00）按体重的 7%～10%定量投喂，每日吸污 2 次，换水 1/3~1/2，并记录投喂量和死亡情

况，每 2 周测定 1 次养殖水体的盐度、pH 及溶解氧和氨氮含量。试验过程中养殖水体的盐度为(30.5±0.5)‰，温度为(27±1）℃，溶解氧含量为(7.6±0.7）mg/L，氨氮含量为(0.48±0.13）mg/L，pH 稳定在 8.0～8.6。饲养 6 周后，每次投喂 2 h 后采用虹吸法收集粪便于培养皿中，挑取包膜完整的粪便于称量瓶中，70 ℃烘干后保存于-20 ℃冰箱中用于饲料中营养物质表观消化率的测定。

1.3 样品采集

养殖试验结束后，饥饿 24 h 后每箱分别计数和称重，然后每箱随机取 6 尾虾，擦干体表水分后称重，用于全虾营养成分分析；每箱再随机取 10 尾虾，以 2.5 mL 一次性注射器于头胸甲后缘围心腔内吸取 0.5 mL 淋巴血，再加入 1.5 mL 抗凝剂混合均匀后立即以 100×g、4 ℃离心 10 min，弃血细胞和沉淀留上清液即为血浆，4 ℃保存；取完血淋巴后，于冰盘上将对虾解剖，取肝胰腺称重后液氮迅速冷冻，-80 ℃保存。

1.4 指标测定

1.4.1 肝胰腺组织匀浆的制备

取肝胰腺组织于冰冷的生理盐水中漂洗(除去血液)，用滤纸拭干后称取 0.5 g 放入 10 mL 离心管中，加入匀浆介质（含 0.01mol/L Tris-HCI、0.000 1 mol/L EDTA-2Na,、0.01 mol/L 蔗糖、0.137 mol/L 氯化钠的溶液，pH=7.4），采用内切式组织匀浆机匀浆 5 次（冰水浴下），每次 10 秒，制备成 10%的肝胰腺组织匀浆，用于消化及免疫指标的测定。

1.4.2 测定方法

饲料和虾粪便中的三氧化二铬(Cr_2O_3)含量采用 SCT 1089-2006《鱼类消化率测定方法》中的酸消化比色法测定，水分含量采用 105 ℃烘干减重法测定，粗蛋白质含量采用凯氏定氮法测定，粗脂肪含量采用索氏抽提法测定，粗灰分含量采用 550 ℃马弗炉灰化法测定。血浆葡萄糖（GLU）、甘油三酯（TG）含量由秦皇岛海港医院检验中心测定，淀粉酶（碘-淀粉比色法）、脂肪酶（比浊法）、胃蛋白酶（福林试剂比色法）、胰蛋白酶[N-苯甲酰-L-精氨酸乙酯(BAEE)法]、溶菌酶（LZM，自身对照法）、过氧化物酶（POD，酚比色法）活性和总抗氧化能力（T-AOC，FRAP 法）的测定均采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒检测。

凡纳滨对虾的生长性能及饲料中营养物质表观消化率等指标根据以下公式计算：

存活率（SR，%）$=100\times N_t/N_0$；

增重率（WGR，%）$=100\times(W_t-W_0)/W_0$；

特定生长率（SGR,%/d）$=100\times(\ln W_t-\ln W_0)/t$；

蛋白质效率（PER,%）=100×（W_t-W_0）/（F×P）；

饲料系数（FCR）=F/（W_t-W_0）；

肥满度（CF,%）=100×W_t/L^3；

粗蛋白质表观消化率(ADCP,%)=100×(1-A'/A×C/C')；

粗脂肪表观消化率(ADCF,%)=100×(1-B'/B×C/C')。

式中：N_0为初始虾尾数；N_t为终末虾尾数；W_0为虾初始体重(g)；W_t为虾终末体重(g)；t为试验天数(d)；P为饲料中粗蛋白质含量（%）；F为饲料摄食量（g）；L为虾体长（cm）；A为饲料中粗蛋白质含量（%）；A'为粪便中粗蛋白质含量（%）；B为饲料中粗脂肪含量（%）；B'为粪便中粗脂肪含量（%）；C为饲料中 Cr_2O_3 含量（%）；C'为粪便中 Cr_2O_3 含量（%）。

1.4 数据分析

试验结果用平均值±标准差（mean±SD）表示，数据利用 SPSS 17.0 软件进行单因素方差分析（one-way ANOVA），并采用 Duncan 氏法进行组间的多重比较，差异显著性水平为 P<0.05。

2 结 果

2.1 家禽副产物酶解肽对凡纳滨对虾生长性能的影响

由表 4 可知，随着家禽副产物酶解肽替代鱼粉水平的增加，凡纳滨对虾的终末体重、增重率、特定生长率、蛋白质效率均表现出逐渐降低趋势，但 T_1、T_2、T_3 组与 T_0 组无显著差异（P>0.05），T_4 组显著低于 T_0、T_1 组（P<0.05）；饲料系数则呈现上升趋势，但 T_1、T_2、T_3 组与 T_0 组无显著差异（P>0.05），T_4 组显著低于 T_0 组（P<0.05）；各组凡纳滨对虾的存活率和肥满度无显著差异（P>0.05），肥满度随着家禽副产物酶解肽替代鱼粉水平的增加呈现先增加后降低的趋势，以 T_2 组肥满度的值最大。

表 4 家禽副产物酶解肽对凡纳滨对虾生长性能的影响

Table 4 Effects of PHFP on growth performence of *Litopenaeus vannamei*

项目 Items	组别 Groups				
	T_0	T_1	T_2	T_3	T_4
初始体重 IBW/g	0.31±0.00	0.31±0.00	0.32±0.01	0.32±0.01	0.32±0.01
终末体重 FBW/g	1.72±0.07^a	1.69±0.02^a	1.50±0.33^{ab}	1.41±0.03^{ab}	1.32±0.14^b
存活率 SR/%	92.22±6.31	88.33±0.00	91.11±0.96	90.00±4.40	88.33±7.26

增重率 WGR/%	448.53±24.46^{a}	441.80±6.93^{a}	375.04±102.11^{ab}	349.64±6.86^{ab}	319.02±45.59^{b}
特定生长率 SGR/(%/d)	3.03±0.08 ^{a}	3.02±0.03^{a}	2.75±40^{ab}	2.68±0.03^{ab}	2.55±0.20^{b}
蛋白质效率 PER/%	1.22±0.06^{a}	1.13±0.02^{a}	1.00±0.28^{ab}	0.93±0.01^{ab}	0.83±0.09^{b}
饲料系数 FCR	1.98±0.09^{a}	2.10±0.03^{ab}	2.54±0.79^{ab}	2.59±0.02^{ab}	2.91±0.32^{b}
肥满度 CF/%	0.62±0.09	0.66±0.03	0.66±0.01	0.62±0.02	0.63±0.05

同行数据肩标无字母或相同字母表示差异不显著（P>0.05），不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。下表同。

In the same row, values with no letter or the same letter superscripts mean no significant difference (P>0.05), while with different small letter superscripts mean significant difference (P<0.05). The same as below.

2.2 家禽副产物酶解肽对凡纳滨对虾体成分影响

由表 5 可知，随着家禽副产物酶解肽替代鱼粉水平的增加，凡纳滨对虾全虾粗脂肪含量呈现逐渐降低趋势，当替代水平超过 2%时（T_2、T_3、T_4 组）与 T_0 组的差异达到显著水平（P<0.05）；全虾粗灰分呈现逐渐增加趋势，当替代水平超过 2%时（T_2、T_3、T_4 组）与 T_0 组的差异达到显著水平（P<0.05）；全虾水分、粗蛋白质含量均无显著差异（P>0.05）。

表 5　家禽副产物酶解肽对凡纳滨对虾体成分的影响

Table 5　Effects of PHFP on body composition of *Litopenaeus vannamei*　　%

项目 Items	组别 Groups				
	T_0	T_1	T_2	T_3	T_4
水分 Moisture	79.84±0.93	79.55±0.40	80.02±0.45	79.54±0.95	80.26±0.70
粗脂肪 CF	3.85±0.01^{a}	3.42±0.25^{a}	2.20±0.20^{b}	2.18±0.52^{b}	2.12±0.10^{b}
粗蛋白质 CP	71.61±1.99	72.53±1.22	72.56±0.92	71.70±1.12	71.44±1.91
粗灰分 Ash	17.65±0.03^{a}	18.12±0.34^{ab}	18.78±0.27^{bc}	19.50±0.51^{c}	19.45±0.58^{c}

2.3 家禽副产物酶解肽对凡纳滨对虾血浆中 GLU、TG 含量的影响

由表 6 可知，各替代组（T_1、T_2、T_3、T_4 组）血浆中 GLU 含量均显著低于 T_0 组(P<0.05)；血浆中 TG 含量除 T_3 组与 T_0 组无显著差异(P>0.05)外，其余替代组均显著低于 T_0 组(P<0.05)。

表 6　家禽副产物酶解肽对凡纳滨对虾血浆中 GLU、TG 含量的影响

Table 6　Effects of PHFP on GLU and TG contents in plasma of *Litopenaeus vannamei*

mmol/L

项目 Items	组别 Groups				
	T_0	T_1	T_2	T_3	T_4
甘油三酯 TG	0.60±0.04^{a}	0.52±0.04^{bc}	0.51±0.02^{bc}	0.54±0.03^{ab}	0.47±0.02^{c}
葡萄糖 GLU	0.42±0.08^{a}	0.20±0.08^{b}	0.16±0.00^{b}	0.22±0.14^{b}	0.04±0.00^{b}

2.4　家禽副产物酶解肽对凡纳滨对虾消化指标的影响

2.4.1　家禽副产物酶解肽对凡纳滨对虾营养物质表观消化率的影响

由表 7 可知，随着家禽副产物酶解肽替代鱼粉水平的增加，粗蛋白质表观消化率呈现逐渐降低的趋势，粗脂肪表观消化率则呈先增加后降低的趋势，但组间差异均不显著（P>0.05）。

表 7　家禽副产物酶解肽对凡纳滨对虾营养物质表观消化率的影响

Table 7　Effects of PHFP on nutrient apparent digestibility of *Litopenaeus vannamei*　%

项目 Items	组别 Groups				
	T_0	T_1	T_2	T_3	T_4
粗蛋白质表观消化率 ADCP	43.58±2.21	41.60±6.64	39.93±1.51	39.31±6.48	39.32±2.00
粗脂肪表观消化率 ADCF	83.71±2.86	83.97±6.99	84.54±2.16	83.53±1.05	83.98±2.38

2.4.2　家禽副产物酶解肽对凡纳滨对虾肝胰腺中消化酶活性的影响

由表 8 可知，随着家禽副产物酶解肽替代鱼粉水平的增加，凡纳滨对虾肝胰腺中胃蛋白酶和胰蛋白酶活性均逐渐降低。其中，T_1、T_2、T_3组胃蛋白酶活性与T_0组无显著差异（P>0.05），T_4组则显著低于T_0组（P<0.05）；T_2、T_4组胰蛋白酶活性显著低于T_0组（P<0.05），其他替代组与T_0组无显著差异（P>0.05）。各替代组肝胰腺中脂肪酶活性均高于T_0组，以T_1组最高，但各组间无显著差异（P>0.05）。各组肝胰腺中淀粉酶活性无显著差异（P>0.05）。

表 8　家禽副产物酶解肽对凡纳滨对虾肝胰腺中消化酶活性的影响

Table 8　Effects of PHFP on digestive enzyme activities in hepatopancreas of *Litopenaeus vannamei*

项目 Items	组别 Groups				
	T_0	T_1	T_2	T_3	T_4
胃蛋白酶 PPS/(U/mg prot)	4.29±1.11[a]	3.60±1.37[ab]	3.45±0.96[ab]	3.49+±1.26[ab]	2.18±0.54[b]
胰蛋白酶 TPS/(U/mg prot)	4 201±716[a]	3 390±958[ab]	2 250±94[b]	2 770±1012[ab]	2 135±904[b]
淀粉酶 AMS/(U/mg prot)	0.12±0.01	0.11±0.01	0.11±0.01	0.11±0.03	0.10±0.01
脂肪酶 LPS/(U/g prot)	3.21±0.22	4.58±0.45	3.68±0.35	3.63±0.36	3.15±1.28

2.5 家禽副产物酶解肽对凡纳滨对虾血浆和肝胰腺中 LZM 活性的影响

由表 9 可知，随着家禽副产物酶解肽替代鱼粉水平的增加，凡纳滨对虾血浆中 LZM 活性呈现出先增加后降低的趋势，T_1、T_2、T_3 组血浆中 LZM 活性显著高于 T_0 组（P<0.05），以 T_3 组血浆中 LZM 活性最高，T_4 组血浆 LZM 活性与 T_0 组无显著差异(P>0.05)；肝胰腺中 LZM 活性随着家禽副产物酶解肽替代鱼粉水平的增加也呈现先增加后降低的趋势，T_1、T_2、T_3 组分别比 T_0 组高出 19.3%、42.5%和 5.0%，但差异未达显著水平(P>0.05)，T_4 组较 T0 组有所低，但差异未达显著水平(P>0.05)。

表 9 家禽副产物酶解肽对凡纳滨对虾血浆和肝胰腺中 LZM 活性的影响

Table 9 Effects of PHFP on LZM activity in plasma and hepatopancreas of *Litopenaeus vannamei*

项目 Items	组别 Groups				
	T_0	T_1	T_2	T_3	T_4
血浆 Plasma/（U/mL)	70.05±13.39[a]	136.53±42.84[bc]	131.50±26.02[b]	188.36±18.74[c]	110.13±5.49[ab]
肝胰腺 Hepatopancreas/（U/g prot)	1.60±0.63	1.91±0.25	2.28±0.64	1.68±0.91	1.19±0.43

2.6 家禽副产物酶解肽对凡纳滨对虾血浆和肝胰腺中 POD 活性的影响

由表 10 可知，T_1 组血浆中 POD 活性与 T_0 组无显著差异(P>0.05)，但 T_2、T_3、T_4 组则显著低于 T_0 组(P<0.05)；随着家禽副产物酶解肽替代鱼粉水平的增加，肝胰腺中 POD 活性逐渐降低，但各组间无显著差异(P>0.05)。

表 10 家禽副产物酶解肽对凡纳滨对虾血浆和肝胰腺 POD 活力的影响

Table 10 Effects of PHFP on POD activity in plasma and hepatopancreas of *Litopenaeus*

vannamei

项目 Items	组别 Groups				
	T_0	T_1	T_2	T_3	T_4
血浆 Plasma/（U/mL)	188.28 ± 9.05^{a}	181.05 ± 9.84^{ac}	156.19 ± 6.33^{b}	167.91 ± 9.60^{bc}	160.92 ± 6.20^{b}
肝胰腺 Hepatopancreas/（U/g prot)	9.65 ± 0.63	9.62 ± 1.22	9.43 ± 1.26	8.93 ± 0.44	8.18 ± 0.48

2.7 家禽副产物酶解肽对凡纳滨对虾血浆和肝胰腺中 T-AOC 的影响

由表 11 可知，各替代组血浆和肝胰腺中 T-AOC 与 T_0 组无显著差异(P>0.05，)。除 T1 组血浆 T-AOC 略低于对照组外，其他替代组血浆 T-AOC 均高于 T_0 组 T-AOC。肝胰腺中 T-AOC 随着家禽副产物酶解肽替代鱼粉水平的增加表现为先增加后降低的趋势，T-AOC 最高组为 T_2 组。

表 11　家禽副产物酶解肽对凡纳滨对虾血浆和肝胰腺中 T-AOC 的影响

Table 11　Effects of PHFP on T-AOC in plasma and hepatopancreas of *Litopenaeus vannamei*

项目 Items	组别 Groups				
	T_0	T_1	T_2	T_3	T_4
血浆 Plasma/（U/mL）	15.23 ± 2.40	14.80 ± 3.35	20.10 ± 3.5	18.75 ± 4.78	20.80 ± 1.99
肝胰腺 Hepatopancreas/（U/mg prot）	5.32 ± 0.38	5.41 ± 0.90	5.70 ± 1.13	5.54 ± 2.15	5.37 ± 1.06

3　讨　论

3.1 家禽副产物酶解肽对凡纳滨对虾生长、摄食、体成分的影响

Teshima 等[13]、Zambonino 等[14]、Erba 等[15]均认为小肽制品对虾苗具有明显的促进生长作用。姜柯君[16]发现适量小肽的添加可提高星斑川鲽幼鱼的肌肉品质，提高对蛋白质的吸收利用。本试验将预混家禽副产物酶解肽以不同水平替代饲料中的鱼粉，结果发现，家禽副产物酶解肽替代 2%、4%、6%的鱼粉没有表现出明显的促生长作用，其增重率、特定生长率无显著变化，但各替代组全虾粗蛋白质含量均略高于对照组，替代水平超过 2%后全虾粗脂肪含量显著低于对照组，全虾粗灰分显著高于对照组，即替代组对虾全虾的粗蛋白质含量与粗脂肪含量的比值较对照组增高了，这对于作为高蛋白质食品的凡纳滨对虾来讲是个好现象。本试验中各替代组较对照组没有表现出明显的促生长作用可能与试验对象凡纳滨对虾独特的摄食、消化特点以及单独添加游离氨基酸有关。Newey 等[7]证实，含 2～3 个氨基酸的

小肽可以通过载体直接被小肠细胞吸收，于多数动物而言肠道是小肽吸收的主要场所。麦康森等[17]和刘襄河[18]的试验均证明凡纳滨对虾对蛋白质原料的消化、酶解和吸收集中在中肠腺（即肝胰腺），饲料中游离氨基酸在进入肠道以前，绝大部分被中肠腺吸收。据此推测小肽和游离氨基酸的吸收可能存在空间差异，这可能是本次试验中家禽副产物酶解肽对凡纳滨对虾没有产生显著性促生长作用的原因之一，鉴于对虾独特的摄食和消化特点，今后有必要进行小肽在对虾中肠腺、肠道吸收转运机制的深入研究。另外，有研究提出晶体氨基酸可被机体直接吸收，不能与饲料中蛋白质态氨基酸同步吸收[19]，因此试验饲料中预混家禽副产物酶解肽中选择添加了包膜蛋氨酸而非晶体氨基酸，拟解决氨基酸吸收不同步的问题，至于结果没有明显促生长作用，除了氨基酸包膜材料的种类对氨基酸的吸收存在一定的影响外，可能对虾对于小肽和不同形式游离氨基酸的吸收在空间和时间上均存在一定差异。由家禽副产物酶解肽的分子质量分布可知，本试验所用家禽副产物酶解肽的分子质量小于 1 000 u 的小肽约占 76%，而分子质量小于 1 000 u 的小肽具有极强的活性和多样性，多数可直接被机体吸收，因此推测本试验中的小肽可能不存在与晶体蛋氨酸吸收不同步的问题，包膜蛋氨酸反而导致了吸收的不同步，或许加入晶体蛋氨酸后家禽副产物酶解肽对凡纳滨对虾的促生长作用更显著，后续会进行在家禽副产物酶解肽中添加晶体蛋氨酸的试验来验证推论。至于家禽副产物酶解肽替代鱼粉水平达到 8%时增重率显著降低除上述几种原因外，也可能是由于替代水平的增加削弱了鱼粉中某些促生长因子的作用，具体原因有待进一步研究。总之，家禽副产物酶解肽替代鱼粉水平小于 6%时，增重率、特定生长率等生长指标在统计学上无显著性差异，结合资源节约和成本效益等因素考虑，家禽副产物酶解肽部分替代凡纳滨对虾饲料中的鱼粉是可行的。

3.2　家禽副产物酶解肽对凡纳滨对虾肝胰腺消化酶活性及营养物质表观消化率的影响

水产动物对饲料营养物质的消化吸收主要依靠消化器官中的酶，机体消化能力、生长性能和免疫力均与消化酶的活性有关[20]。肝胰腺是虾类主要的消化酶分泌器官，因此肝胰腺中消化酶的活性是衡量虾消化能力的重要指标[21]，同时理论上认为消化酶活性的提高会引起相应蛋白质、脂肪等营养物质消化率的增加[22]。本试验发现，各替代组肝胰腺中脂肪酶活性均高于对照组，且以 2%替代组最高；肝胰腺中胃蛋白酶和胰蛋白酶活性随着家禽副产物酶解肽替代鱼粉水平的增加均呈下降趋势，当替代水平为 8%时，显著低于对照组；肝胰腺中淀粉酶活性各组间无显著性差异；并且各组的蛋白质表观消化率、脂肪表观消化率的变化趋势与相应酶活性的变化趋势大致吻合，符合理论观点。本试验未能得出胡先勤等[23]认为的小肽能提高鱼体内某些消化酶活性，使水产动物的消化方式尽早由胞液消化转变为膜消

化，促进消化功能发育提前，使机体能更加充分有效地利用营养物质这一结论，原因仍是与甲壳动物自身消化吸收方式有关。

3.3 家禽副产物酶解肽对凡纳滨对虾血浆生化指标的影响

血液中的葡萄糖含量反映了凡纳滨对虾体内糖代谢的情况，同时也可反映饲料中营养指标含量是否合适，以及肝脏机能的情况[24]。在一定阈值内血浆 GLU 含量越高，表明虾的状态越好，血浆 GLU 含量超过一定阈值后会造成机体的营养生理胁迫，损害机体健康[25]。血浆 TG 含量反映机体脂肪代谢的情况，其含量升高表明肝脏中脂肪堆积较多，易引发脂肪肝、肝肥大等病理症状[26]。本试验结果表明，家禽副产物酶解肽替代凡纳滨对虾饲料中 2%～8%的鱼粉时可降低血浆中 GLU 和 TG 含量，说明家禽副产物酶解肽替代部分鱼粉对凡纳滨对虾糖、脂代谢有一定的影响。血浆中 GLU 和 TG 的含量会随着饲料组成的不同发生明显变化，血浆中 GLU 含量的降低，一方面可能是因为家禽副产物酶解肽中小肽对糖分解代谢的促进作用大于糖合成代谢，加速了机体内糖的利用，降低了血浆中 GLU 含量；另一方面，甲壳动物所特有的多功能神经内分泌激素—甲克类高血糖素（crustacean hyperglycemic hormone，CHH）的主要功能是调节血浆 GLU 含量，家禽副产物酶解肽中的小肽有可能通过提高机体对 CHH 的敏感性来提高其效率，使血浆 GLU 含量降低。若脂类在体内运输发生障碍，则会导致血浆中 TG 的含量升高，各替代组血浆中 TG 的含量较对照组下降有可能是因为家禽副产物酶解肽中某些小肽可以促进血浆中脂质的代谢，加速 TG 的水解和清除，或者是机体抗氧化能力的增强或减弱对血浆中脂质代谢过程产生了影响，具体还有待进一步研究和论证。

3.4 家禽副产物酶解肽对凡纳滨对虾血浆和肝胰腺中非特异性免疫指标的影响

LZM 又称胞壁质酶，是一种稳定的碱性蛋白酶。Rojtinnakorn 等[27]用表达序列标签法研究日本囊对虾免疫基因表达情况时发现 LZM 是重要的抗菌蛋白之一。滕玉清等[28]发现饲料中添加 5%的鱼蛋白水解物替代鱼粉可显著提高中国对虾肝胰腺中 LZM 的活性；柳茜等[29]发现在饲料中添加 2%酵母蛋白水解物替代鱼粉时可显著提高大菱鲆幼鱼血清中 LZM 的活性。本试验研究表明，随着家禽副产物酶解肽替代鱼粉水平的增加，肝胰腺中 LZM 的活性逐渐升高，但各组间无显著差异；而血浆中 LZM 的活性则呈现出先增加后降低的趋势，2%、4%和 6%替代组显著高于对照组，推测家禽副产物酶解肽通过增强凡纳滨对虾血浆中 LZM 的活性来提高自身抗菌、抗病毒能力。

POD 是一类可以催化过氧化氢、氧化酚类和胺类的化合物，具有消除过氧化氢、酚类和胺类毒性的双重作用，存在于过氧化物酶体中，是机体的抗氧化酶，对细胞起保护作用。

本试验结果表明2%替代组血浆中POD活性与对照组无显著差异，但4%、6%及8%替代组血浆中POD的活性显著低于对照组；肝胰腺中POD活性各组间无显著差异。

测定T-AOC可以间接分析机体防御体系抗氧化的主要途径，T-AOC是反映机体整体抗氧化水平高低的重要指标[30]。石广举等[31]研究发现抗菌肽可以显著提高对虾血清中T-AOC。在本试验中，随着家禽副产物酶解肽替代鱼粉水平的增加，各替代组血清和肝胰腺中T-AOC均高于对照组（除2%替代组略低于T0组），推测家禽副产物酶解肽可能有助于机体提高自身的抗氧化能力来增强机体的防御能力。另外，机体抗氧化能力在脂质代谢中也具有重要的作用，抗氧化能力的增强有助于缓解机体应激状态，提高脂蛋白脂酶（LPL）活性，从而降低血浆中TG的含量[32-33]。因此，机体T-AOC的增强可能为本试验血浆TG含量的降低提供了一个可能的原因。

4 结 论

在本试验条件下：

① 家禽副产物酶解肽替代饲料中2%～6%的鱼粉时，对凡纳滨对虾的存活率、增重率、特定生长率等生长指标及饲料利用指标无显著影响。

② 家禽副产物酶解肽替代饲料中超过2%的鱼粉时，会显著降低凡纳滨对虾全虾粗脂肪含量，显著提高全虾粗灰分含量，对其他体成分含量无显著影响。

③ 家禽副产物酶解肽替代饲料中2%的鱼粉时，凡纳滨对虾肝胰腺中脂肪酶活性最高，，并可显著降低血浆中GLU和TG的含量，显著提高血浆中LZM的活性。

④ 以生长性能为基础，综合考虑消化、非特异性免疫等指标，家禽副产物酶解肽替代凡纳滨对虾饲料中鱼粉的适宜水平为2%。

参考文献：

[1] 彭翔,宋文新,周凡,等.发酵豆粕替代鱼粉对黑鲷胃肠道和血清指标的影响[J].江苏农业学报,2012,28(5):1096–1103.

[2] SOOKYING D,DAVIS A D.Pond production of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed high levels of soybean meal in various combinations[J].Aquaculture,2011,319(1/2):141–149.

[3] 陈水春,胡俊茹,李军勇,等.鱼粉替代物在水生动物上的研究进展[J].现代渔业信息,2008,23(11):20–23,27.

[4] POPPI D A,QUINTON V M,HUA K,BUREAU D P.Development of a test diet for assessing the bioavailability of arginine in feather meal fed to rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J].Aquaculture,2011,314(1/2/3/4):100–109.

[5] 明建华,刘波,刘文斌.小肽吸收机制及其在水产动物饲料中的应用[J].饲料博览,2008(1):44–47.

[6] NEWEY H,SMYTH D H.The intestinal absorption of some dipeptides[J].The Journal of Physiology,1959,145(1):48–56.

[7] NEWEY H,SMYTH D H.Intraeellular hydrolysis of dipeptides during Intestinal absorption[J].The Journal of Physiology,1960,152(2):367–380.

[8] NEWEY H,SMYTH D H.Cellular mechanisms in intestinal transfer of Amino aeids[J].The Journal of Physiology,1962,164(3):527–551.

[9] 许培玉,周洪琪.小肽制品对南美白对虾蛋白酶和淀粉酶活力的影响[J].上海水产大学学报,2005,14(2):134–137.

[10] 姚清华,颜孙安,宋永康,等.饲用羽毛肽粉氨基酸营养价值研究[J].营养学报,2012,34(3):245–249.

[11] 刘冰许,李黎,赵志鹏,等.羽毛粉、血粉加工方法综述及展望[J].现代畜牧兽医,2015(7):55–58.

[12] 王裕玉,于世亮,石野,等.羽毛粉在水产动物饲料中的应用[J].中国饲料,2013(15):39–43.

[13] TESHIMA S,KANAZAWA A,KOSHIO S.Recent developments in nutrition and microparticulate diets of larval prawns[J].The Ismeli Journal of Aquaculture Barnidg,1993,45(4):175–184.

[14] ZAMBONINO I J L,CABU C L,PERES A.Partial substitution of di-and tripeptides for native proteins in sea bass diet improves *Dicentrarchus labrax* larval development[J].The Journal of Nutrition,1997,127(4):608–614.

[15] ERBA D,CIAPPELLANO S,TESTOLIN G.Effect of caseinphosphopeptides on inhibition of calcium intestinal absorption due to phosphate[J].Nutrition Research,2001,21(4):649–656.

[16] 姜柯君.小肽对星斑川鲽(*Platichthys stellatus)*幼鱼生长、肌肉品质和生理生化指标的影响[D].硕士学位论文.上海:上海海洋大学,2013.

[17] 麦康森,李爱杰,尹左芬.对虾对饵料蛋白质及氨基酸吸收利用的研究[J].海洋学报,1987,9(4):489–495.

[18] 刘襄河.凡纳滨对虾对蛋白质饲料原料消化率的研究及饲料配方实践[D].硕士学位论文.厦门:集美大学,2011.

[19] 钱前.晶体或包膜赖氨酸对湘云鲫生长及生理效应的影响[D].硕士学位论文.重庆:西南

大学,2014.

[20] 孙育平,裘金木,王国霞,等.低蛋白质饲料中添加色氨酸对凡纳滨对虾饲料表观消化率、消化酶活和全虾氨基酸组成的影响[J].水生生物学报,2016,40(4):720–727.

[21] 宋红利,董晓慧,谭北平,等.蛋白酶和有机酸盐对凡纳滨对虾生长性能、免疫酶和消化酶的影响[J].广东饲料,2016,25(4):29–34.

[22] 陈义方,李卓佳,牛津,等.饲料蛋白水平对不同规格凡纳滨对虾蛋白质表观消化率和消化酶活性的影响[J].南方水产科学,2012,8(5):66–71.

[23] 胡先勤,韩继宏.大豆小肽在鲫鱼鱼苗中的应用[J].科学养鱼,2005(2):67-68.

[24] 赵万鹏,刘永坚,潘庆,等.草鱼摄食后血糖和肝糖原质量分数的变化[J].中山大学学报（自然科学版）,2002,41(3):64–72.

[25] 林小植,罗毅平,谢小军.饲料碳水化合物水平对南方鲇幼鱼餐后糖酵解酶活性及血糖浓度的影响[J].水生生物学报,2006,30(3):304–310.

[26] 文远红,曹俊明,黄燕华,等.蝇蛆粉替代鱼粉对黄颡鱼幼鱼生长性能、体组成和血浆生化指标的影响[J].动物营养学报,2013,25(1):171–181.

[27] ROJTINNAKORN J,HIRUNOI,ITAMI T.Gene expression in haemocytes of kuruma prawn,*Penaeus japonicus*,in response to infection with WSSV by EST approach[J].Fish & Shellfish Immunol,2002,13(1):69–83.

[28] 滕玉清,梁萌青,王正丽,等.饲料中水解鱼蛋白对中国对虾非特异免疫的影响[J].渔业科学进展,2011,35(5):84–91.

[29] 柳茜,杨文娇,吴振,等.酵母水解物对大菱鲆幼鱼非特异性免疫及抗应激能力的影响[J].饲料工业,2015,36(18):33–37.

[30] 陈晓瑛,曹俊明,黄燕华,等.饲料中添加低聚木糖对凡纳滨对虾幼虾生长性能、非特异性免疫力、抗氧化功能及抗对虾白斑综合征病毒能力的影响[J].动物营养学报,2014,26(8):2397–2407.

[31] 石广举,孙力军,王雅玲,等.纳豆芽孢杆菌 NT-6 抗菌脂肽对凡纳滨对虾生长性能及非特异性免疫指标的影响[J].广东农业科学,2014,41(22):99–103.

[32] 张雪芹.凡纳滨对虾与斑节对虾脂肪代谢胰脂酶(*Pancreatic lipase*)基因的克隆及其表达分析[D].硕士学位论文.广州:广东海洋大学,2014.

[33] 徐军.通过 SirT3/AMPK 信号通路介导的 Theacrine 对脂质代谢的影响及其机制研究[D].博士学位论文.沈阳:辽宁中医药大学,2014.

Effects of Peptides Hydrolyzed from Poultry By-Products on Growth Performance, Digestive Indices and Non-Specific Immune Indices of *Litopenaeus vannamei*

LU Jingjing[1] GUO Ran[1*] XIA Hui[1] XIE Wei[1] WANG Meixue[1] YANG Pinxian[1] LI Na[2]

(1. *Ocean College of Hebei Agricultural University*, *Qinhuangdao* 066000, *China*; 2. *Gaotang First Middle School in Shangdong Province, Liaocheng* 252000, *China*)

Abstract: In this study, we evaluated the growth performance, digestive indices and non-specific immune indices of *Litopenaeus vannamei* to study the feasibility of peptides hydrolyzed from poultry by-products (PHFP) as a protein source for partial replacement of fish meal (FM) in the diet of *Litopenaeus vannamei.* Five experimental diets were prepared to replace 0 (control), 2%, 4%, 6% and 8% FM of basal diet by premixed PHFP (adding coated methionine in the PHFP to reach methionine content in line with domestic FM), and corresponding named as T0, T1, T2, T3 and T4, respectively. A total of 900 *Litopenaeus vannamei* with the average body weight of (0.31±0.01) g were randomly divided into 5 groups with 3 replicates per group and 60 shrimps per replicate. The indoor feeding experiment lasted for 6 weeks. The results showed as follows: PHFP could replace 2% to 6% of FM without causing a significant reduction in the weight gain rate, specific growth rate, protein efficiency ratio and feed conversion ratio of shrimps (P>0.05). Compared with the control group, the crude fat content of whole body was significantly decreased (P<0.05) and the ash content of whole body was significantly increased (P<0.05) when the replacement level of FM with PHFP was over 2%. When the replacement level of FM with PHFP was 2%, the lipase (LPS) activity in hepatopancreas was highest among the groups, while the contents of glucose (GLU) and triglycerides (TG) in plasma were significantly decreased (P<0.05) and the activity of lysozyme (LZM) in plasma was significantly increased compared with control group (P<0.05). When the replacement level of FM with PHFP was over 2%, the peroxidase (POD) activity in plasma was significantly decreased compared with control group (P<0.05). There were no significant differences in the apparent digestibility of crude protein and crude fat, the activity of LZM, POD and total antioxidant capacity (T-AOC) in hepatopancreas (P>0.05). It

*Corresponding author, associate professor, E-mail: toguoran@163.com (责任编辑 菅景颖)

follows that in this experiment condition, based on the growth performance and took into account digestive indices and non-specific immune indices, optimal replacement level of FM with PHFP in the diet for *Litopenaeus vannamei* is 2%.

Key words: PHFP; *Litopenaeus vannamei*; growth performance; digestive indices; non-specific immune indices